

## 青贮微生物的发掘及其应用的研究进展

牛化欣 常 杰 胡宗福 萨仁呼 张 适 王思珍\*

(内蒙古民族大学动物科学技术学院, 通辽 028000)

摘 要: 青贮微生物的种类和丰度在青贮饲料发酵体系中发挥着关键作用, 发掘和利用青贮有益微生物是该研究领域的热点和重点。本文综述了青贮微生物新菌种的认识与鉴定、青贮微生物接种剂常用种类及作用机制及其对青贮饲料品质、有氧稳定性、反刍动物生产性能的影响, 旨在为研发优质的青贮微生物接种剂、提高青贮饲料营养品质和改善反刍动物生产性能提供技术手段和理论基础。

关键词: 青贮饲料; 微生物; 宏基因组学; 接种剂; 有氧稳定性

中图分类号: 文献标识码: A 文章编号:

据统计, 我国每年玉米籽粒消费量的 60%以上用于饲料, 但生产玉米的秸秆却未被畜牧高效利用, 造成种植业副产品的饲料转化利用难度高、效率低。从提高资源的综合利用率、减少污染、提高产品的附加值等各方面考虑, 秸秆的综合利用十分必要<sup>[1]</sup>。随着我国农业结构战略性调整和畜牧业的快速发展, 大力推进全株青贮玉米种植、发展反刍动物养殖相结合的“种植-养殖-种植”模式、积极实施“粮改饲”降本增效项目是解决饲料资源短缺问题和人畜争粮矛盾的重要举措。为提高和改善反刍动物的生产性能, 更好地使全株玉米、苜蓿牧草等转化为优质的饲料, 利用青贮微生物发酵技术, 添加有益微生物来改善青贮饲料的品质是非常重要的措施之一<sup>[2]</sup>。本文从近年来国内外青贮微生物研发和利用的现状出发, 结合最新研究进展, 将青贮微生物技术、种类及微生物接种剂对青贮饲料的作用机理、营养品质、有氧

收稿日期: 2018-04-23

资助项目: 内蒙古自治区自然科学基金面上项目(2018MS03022); 内蒙古自治区“草原英才工程”青年创新创业人才第一层次培养项目(NM2017-22); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2018LH03013)

作者简介: 牛化欣(1978—), 男, 山东菏泽人, 博士, 教授, 从事动物营养与生物饲料的研究。E-mail: niuhx@imun.edu.cn

\*通信作者: 王思珍, 教授, 硕士生导师, E-mail: wangsizhen@imun.edu.cn



稳定性、动物生产性能的影响进行概述,为进一步改善青贮饲料品质和提高反刍动物生产性能提供理论基础和应用参考。

## 1 青贮微生物新菌种的认识与鉴定

传统培养方法结合现代分子生物技术,如 PCR-变性梯度凝胶(DGGE)技术、16S rRNA 高通量第二代 454 焦磷酸测序技术、第三代单分子测序技术、宏基因组(metagenomics)、转录组(metatranscriptomic)等,能快速准确检测微生物多样性和结构组成<sup>[2-6]</sup>。Han 等<sup>[7]</sup>利用 PCR-DGGE 检测全混合日粮青贮饲料中微生物菌群,同时发现了耐酸乳杆菌(*Lactobacillus acetotolerans*)和脑桥乳杆菌(*L. pontis*)菌株。Li 等<sup>[8]</sup>利用高通量测序技术在青贮过程中检测到 30 多个菌属群落结构的变化情况。刘晶晶<sup>[9]</sup>应用 Miseq 高通量测序技术检测柳枝稷青贮 60 d 后的微生物多样性。陶莲等<sup>[10]</sup>通过实验室检测手段和 Miseq 高通量测序技术相结合,能够在分析青贮品质的同时,提供青贮前后整个菌落构成及丰度变化的信息,进而为发酵过程的调控提供依据。Bao 等<sup>[11]</sup>利用第三代单分子测序技术,检测苜蓿青贮前后微生物的变化及菌落对苜蓿品质的影响,可用于评估青贮饲料微生物变化和质量。本课题组采用 Miseq 高通量测序技术分析了全株玉米青贮发酵和暴露空气过程中的微生物变化规律及菌落结构的动态变化,发现短期暴露空气可增加有害菌——梭菌的繁殖<sup>[12]</sup>。随着传统培养方法和不断发展的 PCR 新技术的结合,青贮饲料中新的菌种正在不断被认识和利用,这些新的菌种被分离、筛选,扩大培养后接种到青贮饲料中,再采用 PCR-DGGE、高通量测序-宏基因组等方法阐明菌种对青贮发酵的作用,这是发掘和利用青贮微生物新菌种行之有效的方法和措施。

近年来,青贮饲料中分离的微生物菌种如表 1,通过了解这些微生物新种类的生物生长和发酵特性,可以筛选出对青贮饲料品质有益的种类,作为青贮微生物接种剂,同时,可以查找出对青贮有害的微生物,作为研究青贮抑制菌的参考。

表 1 青贮饲料中分离的微生物菌种



43

Table 1 Microbial species isolated from silage

44

微生物种类	拉丁文名称	青贮类型	引用文献
Microbial species	Latin name	Silage type	References
乳酸菌属 Lactic acid bacterium			
食果糖乳杆菌	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	青贮苜蓿	Wu 等 <sup>[13]</sup>
植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>	野生牧草	王红梅等 <sup>[14]</sup>
植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>	青贮牧草	Valan 等 <sup>[15]</sup>
	<i>Lactobacillus mixtipabuli</i>	青贮混合日粮	Tohno 等 <sup>[16]</sup>
耐酸乳杆菌	<i>Lactobacillus acetotolerans</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[17]</sup>
面包乳杆菌	<i>Lactobacillus panis</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[17]</sup>
罗伊氏乳杆菌	<i>Lactobacillus reuteri</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[17]</sup>
台湾乳杆菌	<i>Lactobacillus taiwanensis</i>	青贮饲料	Wang 等 <sup>[18]</sup>
玉米乳杆菌	<i>Lactobacillus zeae</i>	紫花苜蓿	Rossi 等 <sup>[19]</sup>
	<i>Lactobacillus silaginicola</i>	青贮饲料	Tohno 等 <sup>[20]</sup>
戊糖乳杆菌	<i>Lactobacillus pentosiphilus</i>	青贮饲料	Tohno 等 <sup>[20]</sup>
乳明串珠菌	<i>Leuconostoc lactis</i>	玉米秸秆	Pang 等 <sup>[21]</sup>
黄色肠球菌	<i>Enterococcus flavescens</i>	玉米	Brusetti 等 <sup>[22]</sup>
蒙氏肠球菌	<i>Enterococcus mundti</i>	玉米秸秆	Pang 等 <sup>[21]</sup>
副乳杆菌	<i>Paralactobacillus selangorensis</i>	意大利黑麦草	Parvin 等 <sup>[23]</sup>
戊糊精片球菌	<i>Pediococcus dextrinicus</i>	意大利黑麦草	Parvin 等 <sup>[23]</sup>
小片球菌	<i>Pediococcus parvulus</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
融合魏斯氏乳酸菌	<i>Weissella cibaria</i>	玉米、玉米秸秆	Pang 等 <sup>[21]</sup>

chinaXiv:201812.00737v1



魏斯氏乳酸菌	<i>Weissella kimchii</i>	青贮玉米	Brusetti 等 <sup>[22]</sup>
类肠膜魏斯氏菌	<i>Weissella paramesenteriodes</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
厌氧芽孢梭菌属 Anaerobic spore formers			
巴氏梭菌	<i>Clostridium baratii</i>	青贮玉米	Rossi 等 <sup>[19]</sup>
软化类芽孢杆菌	<i>Paenibacillus macerans</i>	青贮玉米	Rossi 等 <sup>[19]</sup>
芽孢杆菌属 Bacillus			
巨大芽孢杆菌	<i>Bacillus megaterium</i>	青贮玉米	Brusetti 等 <sup>[22]</sup>
肠杆菌属	<i>Enterobacteria</i>		
桃色欧文氏菌	<i>Erwinia persicina</i>	意大利黑麦草	Li 等 <sup>[25]</sup>
成团肠杆菌	<i>Pantoea agglomerans</i>	意大利黑麦草	Li 等 <sup>[25]</sup>
水生拉恩菌	<i>Rahnella aquatilis</i>	意大利黑麦草	Li 等 <sup>[25]</sup>
乙酸菌 Acetic acid bacteria			
巴氏醋杆菌	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[17]</sup>
酵母菌 Yeast			
酿酒酵母菌	<i>Saccharomyces martiniae</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
毕赤酵母菌	<i>Pichia deserticola</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
奥默毕赤酵母	<i>Pichia kudriavzevii</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
发酵毕赤酵母	<i>Pichia fermentans</i>	青贮玉米	Rossi 等 <sup>[19]</sup>
库德里阿兹威毕赤酵母	<i>Pichia kudriavzevii</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
假丝酵母	<i>Candida apicola</i>	玉米、黑麦草	Rossi 等 <sup>[19]</sup>
中间假丝酵母	<i>Candida intermedia</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
光滑假丝酵母	<i>Candida glabrata</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>
木兰假丝酵母	<i>Candida magnolia</i>	青贮玉米	Li 等 <sup>[24]</sup>



管道假丝酵母

*Candida mesenterica*

青贮玉米

Rossi 等<sup>[19]</sup>

Wu 等<sup>[13]</sup>在青贮苜蓿中分离出了食果糖乳杆菌 (*L. fructivorans*)。王红梅等<sup>[14]</sup>从呼伦贝尔草原牧草青贮饲料中分离得到 5 株乳酸菌菌株, 分别为乳杆菌属和片球菌属 (*Pediococcus* spp.) 的植物乳杆菌 (*L. plantarum*)、戊糊精片球菌 (*Pediococcus dextrinicus*)、短乳杆菌 (*L. brevis*)、干酪乳杆菌 (*L. casei*) 和草乳杆菌 (*L. graminis*), 其中植物乳杆菌产酸能力最强, 发酵速度最快, 耐酸和耐低温能力较强, 适宜用作呼伦贝尔地区青贮饲料乳酸菌添加剂的菌种。Wang 等<sup>[18]</sup>从青贮饲料中分离出新的菌种并命名为台湾乳杆菌 (*L. taiwanensis*)。Rossi 等<sup>[19]</sup>调查了农场的青贮饲料, 主要是青贮玉米、苜蓿、黑麦草及其青贮玉米和玉米粒的混合物, 除分离青贮玉米中已知的乳酸菌外, 还发现了新菌种玉米乳杆菌 (*L. zeae*); 同时在这些青贮饲料中被发现的厌氧芽孢梭菌属中, 除了巴氏梭菌 (*Clostridium baratii*) 和软化类芽孢杆菌 (*Paenibacillus macerans*), 其他大部分是已知的梭菌; 在这些青贮饲料中, 管道假丝酵母 (*Candida mesenterica*)、假丝酵母 (*C. apicola*) 和毕赤酵母菌 (*Pichia fermentans*) 3 种酵母种类被鉴定, 其中管道假丝酵母、假丝酵母是首次被报道。Brusetti 等<sup>[22]</sup>采用 LH-PCR 技术研究青贮玉米早期存在巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) (发酵 0 和 1 d)、魏斯氏乳酸菌 (*Weissella kimchi*) (发酵 6 d) 和黄色肠球菌 (*Enterococcus flavescens*) (发酵 13 d), 这些菌种是首次在青贮饲料中报道。

## 2 青贮微生物接种剂作用机理及应用效果

### 2.1 青贮微生物接种剂常用种类及作用机制

青贮微生物接种剂通常分为 4 类: 1) 同型发酵乳酸菌, 可快速降低 pH、增加乳酸菌数量和乳酸含量; 2) 专性异型发酵乳酸菌, 具有主要增加有氧稳定性的作用; 3) 兼性异型发酵乳酸菌, 具有两者联合的作用; 4) 其他微生物接种剂, 也就是非乳酸菌接种剂 (N-LAB), 如新型的微生物接种剂牛链球菌 (*Streptococcus bovis*) - 同型乳酸菌联合、丙酸杆菌 (*Propionibacterium*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*)、酵母菌 (yeast), 以上青贮微生物接种剂主



要有促进发酵、抑制有氧恶化、改善营养和吸收等作用<sup>[23]</sup>。为弥补青贮原料附生菌(小于  $10^5$  CFU/g 鲜物质)的不足,更好地促进青贮发酵,在制作青贮饲料时,应该添加菌剂使青贮饲料中发酵菌种不少于  $10^5$  CFU/g 鲜质量,使青贮环境 pH 降低加快,更快进入发酵期。其作用机制是创造一个封闭的厌氧环境,添加适宜的微生物接种剂结合附着在牧草上的乳酸菌,可加快青贮发酵速度,增强乳酸菌的快速繁殖,使 pH 快速降低到 3.8 以下,产生的乳酸等有机酸能有效抑制其他微生物的生长繁殖,从而最大限度地减少营养物质的损失,提高牧草的能量转化率,保持牧草鲜绿、芳香气味的感官特性和改善反刍动物的适口性<sup>[2]</sup>。因此,在青贮饲料发酵调制过程中,添加适宜的接种菌剂可加快青贮发酵速度,改善青贮品质,提高其利用率,增强有氧稳定性,有效提高动物的采食量。

## 2.2 青贮微生物接种剂对青贮饲料品质和有氧稳定性的影响

近 20 年来,在世界大部分地区微生物接种剂已广泛应用。青贮微生物接种剂产品大部分是同型发酵乳酸菌接种剂,如植物乳杆菌、干酪乳杆菌、粪链球菌 (*E. faecium*)、片球菌等。添加微生物接种剂的目的是在青贮发酵过程中快速、高效生产乳酸,可使 pH 更快降低,减少干物质和粗蛋白质的损失,保持青贮原料的营养价值和品质。然而,研究发现使用这些产品对青贮全株玉米有氧稳定性会产生一定的负面影响,这可能是因为乙酸的减少。目前寻找一种同型发酵乳酸菌,既能以有机酸为主要发酵产物,又能保持青贮饲料不变败的微生物接种剂是业内非常迫切的需求。

异型发酵乳酸菌来自于乳酸杆菌科中乳酸杆菌属,如布氏乳杆菌 (*L. buchneri*)、罗伊氏乳杆菌 (*L. reuteri*)、乳球菌属 (*Oenococcus*),明串珠菌属 (*Leuconostoc*) 和魏斯氏菌 (*Weissella*)。布氏乳杆菌作为代表的微生物接种剂被广泛应用,该菌株生长缓慢,即使在发酵期结束后也能从糖或乳酸中产生乙酸,乙酸的增加可以抑制酵母菌和霉菌的生长,延缓青贮饲料腐败变质,进而改善青贮饲料的有氧稳定性。然而,这种微生物接种剂也存在一些缺陷,相比同型发酵乳酸菌,其生长较为缓慢,需要青贮 50~70 d 才能改善青贮饲料的有



氧稳定性, 因此, 在青贮中添加布氏乳杆菌的特殊菌株和接种量还需要进一步研究, 来弥补这些缺陷<sup>[25]</sup>。最近研究表明, 新型的布氏乳杆菌-A KKP 2047p 能将 1,2-丙二醇转化为丙酸, 这有助于葡萄糖和维生素 B<sub>12</sub> 的生成<sup>[26]</sup>, 但是青贮中天然存在的该菌株是否有这种转化能力尚不清楚, 有待进一步研究。布氏乳杆菌与传统的微生物接种剂联合应用, 既可提高青贮饲料的品质和动物的生产性能, 又能改善其有氧稳定性。Guo 等<sup>[27]</sup>利用单分子实时 (SMRT) 测序技术和代谢组学检测在紫花苜蓿中添加同型发酵植物乳杆菌和异型发酵布氏乳杆菌的青贮饲料细菌群落动态变化和代谢特征, 为青贮饲料发酵过程中微生物变化提供了生物信息, 也为添加不同类型的微生物接种剂生产不同品质的青贮饲料提供了调控方法。

兼性和专性异型发酵乳酸菌联合应用是一个微生物接种剂产品实现 2 种类型有益作用的重要途径之一。兼性异型发酵乳酸菌控制发酵期间梭菌等有害菌的生成, 降低粗蛋白质的水解和干物质的损失。专性异型发酵乳酸菌大部分布氏乳杆菌种类在青贮发酵后期由乳酸转变乙酸较慢, 可提高青贮 pH 和有氧稳定性, 从而使饲喂的动物在日增重和产奶量等生产性能上获得提升。然而, 目前投喂添加联合微生物接种剂的青贮饲料可以持续提高动物生产性能的作用尚不清楚。体外消化研究表明, 青贮可以改善纤维的消化作用<sup>[28]</sup>, 但在反刍动物体内是否有类似的有益作用还需进一步试验来验证。

对于新的微生物接种剂, 牛链球菌 (*Streptococcus bovis*) 与乳酸菌菌株在青贮使用中的作用非常相似, 它是在瘤胃中认知和筛选的, 而不是在青贮中发现的乳酸菌种, 生长繁殖非常快, 20 min 可增倍生长, 比青贮乳酸菌菌种繁殖快。Ferreira 等<sup>[29]</sup>在实验室微贮象草中添加 2 株牛链球菌株进行 60 d 青贮, 与未添加和添加粪肠球菌比较, 牛链球菌株不仅降低了 pH 和氨氮含量, 还减少了气体和液体物的损失, 从而增加了青贮干物质含量, 因此, 这 2 种菌株有望成为潜在的青贮热带牧草的接种菌株。枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 是一种新开发的菌种, 可通过产生具有抑制酵母和霉菌的细菌素来提高有氧稳定性, 已在青贮玉米<sup>[30]</sup>和青贮苜蓿中应用。最近, 酵母菌如毕赤酵母、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 作为一



种新的青贮微生物接种剂已被报道<sup>[31]</sup>，具有抑制青贮有害菌的生成和有氧损失的作用，但是在青贮应用中很难控制其生长繁殖，这是阻碍其商业化的主要原因之一。研究表明，一些新发现的微生物接种剂可产生抗菌和抗霉菌化合物，能够抑制多种青贮中有害菌和霉菌生成，为提升青贮饲料质量和减少青贮饲料使用过程中有害菌、有害物质生成提供了宝贵的微生物资源<sup>[30-31]</sup>。

### 2.3 青贮微生物接种剂对反刍动物生产性能的影响

青贮微生物接种剂的添加对青贮饲料品质具有积极的作用，而且可提高动物的生产性能。然而，目前有关青贮微生物接种剂提高动物生产性能的机理仍不清楚，在某些情况下，青贮饲料品质与动物的生产性能具有明显的关系，但大部分是间接的关系，青贮饲料干物质消化率的改善与动物生产性能的提高可能有关。Ando 等<sup>[32]</sup>研究发现，添加鼠李糖乳杆菌（*L. rhamnosus*）青贮几内亚牧草，可提高干物质和有机物的消化率，增加阉割公羊的摄食量。最近研究表明，青贮饲料添加菌剂可以改善动物的体外发酵。水稻全混合日粮接种植物乳杆菌株的体外研究表明，与未经处理的全混合日粮青贮饲料相比，减少了甲烷的产生<sup>[33]</sup>。Ellis 等<sup>[34]</sup>添加乳酸菌作为益生菌和发酵剂可增加瘤胃体外消化率，减少甲烷气体的产生。Daniel 等<sup>[35]</sup>添加混合同型发酵剂乳明串珠菌（*L. lactis*）、植物乳杆菌和屎肠球菌（*E. faecium*）接种玉米青贮饲料，可提高奶牛总混合日粮和饲粮的消化率，并增加产奶量。这些结果表明，一些菌剂可以改变瘤胃发酵，无论是降低了甲烷的产生还是增加瘤胃微生物的生物量，任何一种方式都可能提高动物的生产性能。对反刍动物生产者来说，提高生产效率是在青贮饲料中添加微生物接种剂的主要目的。但青贮微生物接种剂对反刍动物生产效率的影响了解甚少。因此，研究青贮微生物接种剂对反刍动物生产性能的影响是筛选和发掘微生物接种剂的目标，应该选择可能增强瘤胃微生物活性的菌株，而不是在青贮期间只降低纤维素的菌株。当然，基于 PCR 新技术、代谢组学与体外发酵进行分析<sup>[27, 36-37]</sup>，将有助于我们进一步深入研究和揭示青贮接种乳酸菌如何影响反刍动物的利用和生产性能。



#### 4 结论与展望

我国对青贮饲料的研究起步较晚，特别是青贮微生物接种剂产品的研发和应用，与发达国家存在很大差距，这与我国“粮改饲”、反刍动物由粗放生产向集约化生产转变的发展是极不相适的。近几年来，我国奶牛、肉牛、肉羊等反刍动物生产突飞猛进，均需要优质青贮饲料作为物质保障，但落后的青贮技术和缺少优质的青贮微生物接种剂，成了制约反刍动物生产和降本增效的主要因素。随着对青贮饲料品质需求的提升和化学腐蚀性青贮添加剂使用的减少，选择无毒、无害、廉价、使用方便的青贮微生物接种剂是我国青贮产业发展的势趋。

目前，国外青贮微生物接种剂应用多年，也已进入我国青贮市场，而我国还没有自主研发的优质青贮微生物接种剂产品，所以亟待加强这方面的研究和开发。我们需采用传统培养法结合现代分子生物技术（尤其是 16S rRNA 高通量第三代单分子和全基因测序技术、宏基因组学、代谢组学、转录组学等不断更新的技术），不断认知青贮饲料资源中的新菌种，分离获得优良的微生物接种剂，为进一步改善青贮饲料品质和提高反刍动物的生产性能提供理论基础和应用新思路。

#### 参考文献：

- [1] 何丽.2014 年中国玉米市场回顾及 2015 年展望[J].中国畜牧杂志,2015,51(2):62–66.
- [2] MUCK R E.Recent advances in silage microbiology[J].Agricultural and Food Science,2013,22(1):3–15.
- [3] SCHMIDT R J,EMARA M G,KUNG L,Jr.The use of a quantitative real-time polymerase chain reaction assay for identification and enumeration of *Lactobacillus buchneri* in silage[J].Journal of Applied Microbiology,2008,105(3):920–929.
- [4] MUYZER G,DE WAAL E C,UITTERLINDEN A G.Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain



- reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J].Applied and Environmental Microbiology,1993,59(3):695–700.
- [5] STRÄEUBER H,LUCAS R,KLEINSTEUBER S.Metabolic and microbial community dynamics during the anaerobic digestion of maize silage in a two-phase process[J].Applied Microbiology and Biotechnology,2016,100(1):479–491.
- [6] METZKER M L.Sequencing technologies-the next generation[J].Nature Reviews Genetics,2010,11(1):31–46.
- [7] HAN H,OGATA Y,YAMAMOTO Y,et al.Identification of lactic acid bacteria in the rumen and feces of dairy cows fed total mixed ration silage to assess the survival of silage bacteria in the gut[J].Journal of Dairy Science,2014,97(9):5754–5762.
- [8] LI L H,SUN Y M,YUAN Z H,et al.Effect of microalgae supplementation on the silage quality and anaerobic digestion performance of *Manyflower silvergrass*[J].Bioresource Technology,2015,189(3):334–340.
- [9] 刘晶晶.生物添加剂对柳枝稷青贮的作用及机理研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2015.
- [10] 陶莲,刁其玉.青贮发酵对玉米秸秆品质及菌群构成的影响[J].动物营养学报,2016,28(1):198–207.
- [11] BAO W C,MI Z H,XU H Y,et al.Assessing quality of *Medicago sativa* silage by monitoring bacterial composition with single molecule,real-time sequencing technology and various physiological parameters[J].Scientific Reports,2016,6:28358,doi:10.1038/srep28358.
- [12] 胡宗福,常杰,萨仁呼,等.基于宏基因组学技术检测全株玉米青贮期间和暴露空气后的微生物多样性[J].动物营养学报,2017,29(10):3750–3760.
- [13] WU B,NISHINO N.Identification and isolation of *Lactobacillus fructivorans* from wilted



- alfalfa silage with and without molasses[J].Journal of Applied Microbiology,2016,120(3):543–551.
- [14] 王红梅,孙启忠,屠焰,等.呼伦贝尔草原野生牧草青贮中优良乳酸菌的分离及鉴定[J].草业学报,2016,25(8):189–196.
- [15] VALAN A M,JUNG M W,KIM D H,et al.Identification and phylogenetic characterization of novel *Lactobacillus plantarum* species and their metabolite profiles in grass silage[J].Annals of Microbiology,2015,65(1):15–25.
- [16] TOHNO M,KITAHARA M,IRISAWA T.*Lactobacillus mixtipabuli* sp.nov.isolated from total mixed ration silage[J].International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2015,65(6):1981–1985.
- [17] LI Y,NISHINO N.Monitoring the bacterial community of maize silage stored in a bunker silo inoculated with *Enterococcus faecium*,*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*[J].Journal of Applied Microbiology,2011,110(6):1561–1570.
- [18] WANG L T,KUO H P,WU Y C,et al.*Lactobacillus taiwanensis* sp.nov.,isolated from silage[J].International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2009,59(8):2064–2068.
- [19] ROSSI F,DELLAGLIO F.Quality of silages from Italian farms as attested by number and identity of microbial indicators[J].Journal of Applied Microbiology,2007,103(5):1707–1715.
- [20] TOHNO M,TANIZAWA Y,IRISAWA T,et al.*Lactobacillus silagincola* sp.nov.and *Lactobacillus pentosiphilus* sp.nov.,isolated from silage[J].International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2017,67(9):3639–3644.
- [21] PANG H L,ZHANG M,QIN G Y,et al.Identification of lactic acid bacteria isolated from corn stovers[J].Animal Science Journal,2011,82(5):642–653.



- 205 [22] BRUSETTI L,BORIN S,MORA D,et al.Usefulness of length heterogeneity-PCR for  
206 monitoring lactic acid bacteria succession during maize ensiling[J].FEMS Microbiology  
207 Ecology,2006,56(1):154–164.
- 208 [23] PARVIN S,NISHINO N.Succession of lactic acid bacteria in wilted rhodesgrass silage  
209 assessed by plate culture and denaturing gradient gel electrophoresis[J].Grassland  
210 Science,2010,56(1):51–55.
- 211 [24] LI Y,NISHINO N,LI Y B.Effects of inoculation of *Lactobacillus rhamnosus* and  
212 *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and microbial communities in  
213 whole crop corn silage[J].Grassland Science,2011,57:184–191.
- 214 [25] LI Y,NISHINO N.Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage  
215 inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*[J].Letters  
216 in Applied Microbiology,2011,52:314–321.
- 217 [26] ZIELIŃSKA K,FABISZEWSKA A,ŚWIATEK M,et al.Evaluation of the ability to  
218 metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus  
219 *Lactobacillus*[J].Electronic Journal of Biotechnology,2017,26(2):60–83.
- 220 [27] GUO X S,KE W C,DING W R,et al.Profiling of metabolome and bacterial community  
221 dynamics in ensiled *Medicago sativa* inoculated without or with *Lactobacillus plantarum* or  
222 *Lactobacillus buchneri*[J].Scientific Reports,2018,8:357,doi:10.1038/s41598-017-18348-0.
- 223 [28] ELLIS J L,HINDRICHSEN I K,KLOP G,et al.Effects of lactic acid bacteria silage  
224 inoculation on methane emission and productivity of Holstein Friesian dairy  
225 cattle[J].Journal of Dairy Science,2017,99(9):7159–7174.
- 226 [29] FERREIRA D D J,LANA R D P,ZANINE A D M,et al.Silage fermentation and chemical  
227 composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus*



- 228        *bovis*[J].Animal of Feed Science and Technology,2013,183(1):22–28.
- 229    [30]    LARA E C,BASSO F C,DE ASSIS F B,et al.Changes in the nutritive value and aerobic
- 230        stability of corn silages inoculated with *Bacillus subtilis* alone or combined with
- 231        *Lactobacillus plantarum*[J].Animal Production Science,2016,56(11):1867–1874.
- 232    [31]    DUNIERE L,JIN L,SMILEY B,et al.Impact of adding *Saccharomyces* strains on
- 233        fermentation,aerobic stability,nutritive value,and select lactobacilli populations in corn
- 234        silage[J].Journal of Animal Science,2015,93(5):2322–2335.
- 235    [32]    ANDO S,ISHIDA M,OSHIO S,et al.Effects of isolated and commercial lactic acid bacteria
- 236        on the silage quality,digestibility,voluntary intake and ruminal fluid
- 237        characteristics[J].Asian-Australasian Journal of Animal Science,2006,19(3):386–389.
- 238    [33]    CAO Y,CAI Y,TAKAHASHI T,et al.Effect of lactic acid bacteria inoculant and beet pulp
- 239        addition on fermentation characteristics and *in vitro* ruminal digestion of vegetable residue
- 240        silage[J].Journal of Dairy Science,2011,94(8):3902–3912.
- 241    [34]    ELLIS J L,BANNINK A,HINDRICHSEN I K,et al.The effect of lactic acid bacteria
- 242        included as a probiotic or silage inoculant on *in vitro* rumen digestibility,total gas and
- 243        methane production[J].Animal of Feed Science and Technology,2016,211:61–74.
- 244    [35]    DANIEL J L P,QUEIROZ O C M,ARRIOLA K G,et al.Effects of homolactic bacterial
- 245        inoculant on the performance of lactating dairy cows[J].Journal of Dairy
- 246        Science,2018,101(6):5145–5152.
- 247    [36]    CARRILLO J A,HE Y H,LI Y K,et al.Integrated metabolomics and transcriptome analyses
- 248        reveal finishing forage affects metabolic pathways related to beef quality and animal
- 249        welfare[J].Scientific Reports,2016,6:25948,doi:10.1038/srep25948.
- 250    [37]    KARST S M,DUEHOLM M S,MCILROY S J,et al.Retrieval of a million



high-quality,full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias[J].Nature Biotechnology,2018,36(2):190–195.

# Research Progress on Discovery and Utilization of Silage Microbes

NIU Huaxin CHANG Jie HU Zongfu Sarenhu Zhang Shi Wang Sizhen\*

(College of Animal Science and Technology, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China)

Abstract: The types and abundances of silage microbes play a key role in the silage fermentation system. Exploring and utilizing beneficial microbes in silage is a hotspot and focus of research in this field. This paper reviewed the cognition and identification of new strains of silage microbes , the types of silage microbial inoculants and their mechanism, and the effects of silage microbial inoculants on the quality of silage, aerobic stability, and performance of ruminants, which would provide a technical mean and theoretical basis for researching silage microbial inoculants and improving silage quality and ruminant performance.

Keywords: silage; microbiology; metagenomics; inoculants; aerobic stability

---

\*Corresponding author, professor, E-mail: [wangsizhen@imun.edu.cn](mailto:wangsizhen@imun.edu.cn)

(责任编辑 陈 鑫)